



TITLE:

Modeling human somite development and fibrodysplasia ossificans progressiva with induced pluripotent stem cells(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Nakajima, Taiki

CITATION:

Nakajima, Taiki. Modeling human somite development and fibrodysplasia ossificans progressiva with induced pluripotent stem cells. 京都大学, 2019, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21697>

RIGHT:

| | | | |
|---|--|-----|---------|
| 京都大学 | 博士（ 医 科 学 ） | 氏 名 | 中 島 大 輝 |
| 論文題目 | Modeling human somite development and fibrodysplasia ossificans progressiva with induced pluripotent stem cells （ヒト iPS 細胞を用いたヒト体節発生の再現と、進行性骨化性線維異形成症の病態再現） | | |
| （論文内容の要旨） | | | |
| <p>発生過程の初期に形成された中胚葉の一部が神経管の両側で未分節体節へと分化し、未分節体節が節化して体節となる。この体節は筋節、硬節、皮節、靱帯節といった胚発生期のステージを経て、最終産物である骨格筋、骨・軟骨、真皮、腱・靱帯などの組織へとそれぞれ発生する。さらに体節は、間葉系幹細胞（MSC）の起源細胞でもあり、出生後の骨・軟骨の発生に関与するとも考えられている。よって、ヒト ES 細胞や iPS 細胞などの多能性幹細胞から体節細胞や体節派生細胞の分化誘導法を確立することは、種々の筋骨格系疾患に対する細胞移植治療や、創薬、疾患モデリング研究を進める上で非常に重要な課題である。また、ヒト体節発生を <i>in vitro</i> でモデル化する点で、ヒト胚を使わずにヒト体節発生を探究するための新たなツールとしても期待される。これまで、ヒト iPS 細胞から体節細胞、筋節、硬節への分化誘導については既にいくつか報告がある。しかし、ヒト iPS 細胞から体節細胞の効率的な分化誘導法や、皮節、靱帯節、体節由来 MSC といった体節派生細胞の分化誘導法は全く開発されていなかった。</p> <p>ES細胞やiPS細胞といった多能性幹細胞を出発点とする分化誘導法を構築する際、発生期におけるシグナル環境を再現することは重要なヒントとなる。本研究ではマウスやニワトリの体節発生時のシグナル環境を再現し、ヒトiPS細胞から未分節体節細胞、体節細胞を誘導し、さらにそこから筋節細胞、硬節細胞とともに皮節細胞と靱帯節細胞、および体節由来MSCへと分化可能であることを初めて示した。</p> <p>さらに本研究では、確立した体節派生物の分化誘導法と、進行性骨化性線維異形成症 (FOP) 患者由来の iPS 細胞を用いて、FOP の <i>in vitro</i> 病態再現を試みた。FOP は、骨格筋、腱・靱帯といった線維性結合組織内に骨化巣が出現する非常に稀な遺伝性疾患である。原因遺伝子は、BMP の I 型受容体の 1 つである ACVR1（別名 ALK2）の経配偶子性点突然変異であることがすでにわかっており、アクチビン A が FOP-ACVR1 を介して異所性骨形成の最初のステップである軟骨の異常形成に寄与することが、本研究グループの先行研究にて明らかにされている（Hino <i>et al.</i>, <i>PNAS</i>, 2015）。上述より、本研究では体節細胞からそれぞれ硬節細胞、間葉系間質細胞様細胞を介して軟骨細胞を誘導することに成功した。この方法を FOP 患者由来 iPS 細胞（FOP-iPS 細胞）に適用し、硬節細胞および間葉系間質細胞様細胞を誘導した後、ACVR1 の刺激因子であるアクチビン A を添加した軟骨形成培地で二次元軟骨分化を行った。すると、アクチビン A で刺激された FOP 患者由来の間葉系間質細胞様細胞のみで軟骨誘導が亢進し硬節細胞では違いが認められなかった。FOP 患者では硬節細胞由来の胎児性骨軟骨形成には大きな異常がないとされている。以上のことから、本研究結果は FOP 患者で見られる異所性の骨軟骨形成と、硬節細胞由来の正常な胎児性骨軟骨形成を再現していると考えられる。また、異所性骨化の強力な阻害剤である R667（レチノイン酸受容体γアゴニスト）および mTOR シグナル阻害剤ラパマイシンにより、軟骨形成の亢進が抑えられた。これらの結果より、今回開発した分化誘導法が疾患解析にも有効であることが示された。</p> | | | |

| |
|--|
| （論文審査の結果の要旨） |
| <p>体節は筋節、硬節、皮節、靱帯節といった胚発生期のステージを経て、最終産物である骨格筋、骨・軟骨、真皮、腱・靱帯などの組織へとそれぞれ発生する。本研究ではマウスやニワトリの体節発生時のシグナル環境や発生の経路を<i>in vitro</i>で再現し、ヒトiPS細胞から未分節中胚葉細胞、体節細胞を誘導した。さらにそこから筋節細胞、硬節細胞とともに皮節細胞と靱帯節細胞、および体節由来間葉系間質細胞様細胞へと分化可能であることを初めて示した。分化後の皮節細胞と靱帯節細胞はそれぞれヒト成人真皮線維芽細胞やヒト成人腱・靱帯細胞と比較して同程度の成熟度や機能の一部を有すことを示した。</p> <p>さらにこの分化誘導法を FOP 患者由来 iPS 細胞（FOP-iPS 細胞）に適用し、硬節細胞および間葉系間質細胞様細胞を誘導した後、ACVR1 の刺激因子であるアクチビン A を添加した軟骨形成培地で二次元軟骨分化を行った。すると、アクチビン A で刺激された FOP 患者由来の間葉系間質細胞様細胞のみで軟骨誘導が亢進し硬節細胞では違いが認められなかった。FOP 患者では硬節細胞由来の胎児性骨軟骨形成には大きな異常がないとされている。以上のことから、本研究結果は FOP 患者で見られる異所性の骨軟骨形成と、硬節細胞由来の正常な胎児性骨軟骨形成を再現していると考えられる。</p> <p>以上の研究は iPS 細胞を用いて <i>in vitro</i> ヒト体節発生モデルを確立し、進行性骨化性線維異形成症の病態解明に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医科学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 31年 2月 4日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p> |
| 要旨公開可能日： 年 月 日 以降 |